

ANNÉE 1925

THÈSE

N° _____

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

MARCEL-HENRI GORY

Né le 12 Septembre 1888, à Paris

Assistant de Bactériologie à l'Institut Pasteur

Ancien externe des Hôpitaux de Paris

TRAVAIL DE L'INSTITUT PASTEUR

(Laboratoire de Microbie technique)

Action des Eaux résiduaires

SUR QUELQUES

Bacilles Pathogènes Intestinaux

ET SUR

LE BACILLE DU COLON

Président : M. BEZANÇON, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1925

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie.	NICOLAS.
Anatomie médico-chirurgicale.	CUNÉO.
Physiologie.	Ch. RICHET.
Physique médicale.	André BROCA.
Chimie organique et chimie générale.	DESGREZ.
Bactériologie.	BEZANÇON.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales.	Marcel LABBÉ.
Pathologie médicale.	SICARD.
Pathologie chirurgicale.	LECÈNE.
Anatomie pathologique.	LETULLE.
Histologie.	PRENANT.
Pharmacologie et matière médicale.	RICHAUD.
Thérapeutique.	CARNOT.
Hygiène.	Léon BERNARD.
Médecine légale.	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.	MÉNÉTRIÉR.
Pathologie expérimentale et comparée.	ROGER.
Clinique médicale.	GILBERT.
	CHAUFFARD.
	ACHARD.
	WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance.	MARFAN.
Clinique des maladies des enfants.	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	JEANSELME.
Clinique des maladies du système nerveux.	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses.	TEISSIER.
	DELBET.
Clinique chirurgicale.	HARTMANN.
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique.	De LAPERSONNE
Clinique urologique.	LEGUEU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements.	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique.	J -L FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.	BROCA Auguste.
Clinique thérapeutique médicale.	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique.	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale.	DUVAL.
Clinique propédeutique.	SERGENT.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	MM.
ABRAMI Pathologie médicale	LABBÉ (Henri). . . Chimie biologique.
ALGLAVE Pathologie chirurgi- cale.	LARDENNOIS. . . Pathologie chirurgi- cale.
AUBERTIN Pathologie médicale	LE LORIER. Obstétrique.
BASSET. Pathologie chirurgi- cale.	LEMAITRE. Oto-rhino-laryngolo- gie.
BAUDOUIN. Pathologie médicale.	LEMIERRE. Pathologie médicale.
BINET. Pnys ologie.	LÉVY SOLAL. Obstétrique.
BLANCHETIERE. Chimie biologique.	LHERMITTE. Pathologie mentale.
BRANCA. Histologie.	LIAN Pathologie médicale.
BRULÉ. Pathologie médicale.	MATHIEU. Pathologie chirurgi- cale.
BUSQUET. Pharmacologie et ma- tière médicale.	METZGER. Obstétrique.
CADENAT. Pathologie chirurgi- cale.	MOCQUOT. Pathologie chirurgi- cale.
CHAMPY. Histologie.	MONDOR. Pathologie chirurgi- cale
CHIRAY. Pathologie médicale.	MOURE. Pathologie chirurgi- cale.
CLERC. Pathologie médicale.	MULON. Histologie
DEBRÉ. Hygiène	PHILIBERT. Bactériologie.
I. de JONG. Anatomie pathologi- que.	RIBIERRE Pathologie médicale.
DUVOIR Médecine légale.	RICHET Fils. Physiologie.
ÉCALLE Obstétrique.	ROUVIÈRE. Anatomie.
FIESSINGER Pathologie médicale.	STROHL. Physique médicale.
FOIX. Pathologie médicale.	TANON. Pathologie médicale.
GARNIER. Pathologie expéri- mentale.	TIFFENEAU Pharmacologie et ma- tière médicale.
HARVIER. Pathologie médicale.	VAUDESCAL. . . . Obstétrique.
HEITZ-BOYER. . . Urologie.	VERNE. Histologie.
HOVELACQUE. . . Anatomie.	VILLARET. Pathologie médicale.
JOYEUX Parasitologie.	WELTER Ophthalmologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	MM
CAMUS Physiologie.	RETTNERER. Histologie.
GOUGEROT. Pathologie médicale.	ROUSSY Anatomie pathologi- que.
GUÉNIOT. Obstétrique.	

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.		MM.	
AUVRAY.	Clinique chirurgicale.	OMBRÉDANNE.	Clinique chirurgicale infantile.
CHEVASSU.	Clinique chirurgicale.	PROUST.	Clinique chirurgicale
LAIGNEL-LAVASTINE.	Clinique médicale.	RATHERY.	Clinique médicale.
LEREBGUILLET.	Clinique médicale infantile.	SCHWARTZ.	Clinique chirurgicale.
LÉRI.	Clinique médicale.	TERRIEN.	Clinique ophtalmologique.
LÉPER.	Clinique médicale.		

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, agrégé.	} Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY.	
N...	
LEDOUX-LEBARD.	
	Stomatologie.
	Éducation physique.
	Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 Décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA MÈRE

(In memoriam)

A MON PÈRE

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR F. BEZANÇON

PROFESSEUR DE BACTÉRIOLOGIE A LA FACULTÉ

MÉDECIN DE L'HOPITAL BOUCICAUT

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

A M. LE DOCTEUR E. ROUX
DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR

*Qui par sa bienveillance nous accueille
à l'Institut Pasteur et nous permet de
réaliser ce travail. En très respectueux
hommage de gratitude et de dévouement.*

A MON MAÎTRE M. R. LEGROUX

*En témoignage de reconnaissance et de
respectueux attachement.*

A MES MAÎTRES DANS LES HOPITAUX

A LA MÉMOIRE DU DOCTEUR E. MOSNY

MÉDECIN DE L'HOPITAL SAINT-ANTOINE

MEMBRE DU CONSEIL SUPÉRIEUR D'HYGIÈNE PUBLIQUE
DE FRANCE

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

A M. LE PROFESSEUR TUFFIER

A M. LE DOCTEUR ROUX-BERGER

A M. LE DOCTEUR THIERRY

A M. LE PROFESSEUR VAQUEZ

A M. LE DOCTEUR MÉRY

A M. LE DOCTEUR LAUBRY

A M. LE DOCTEUR M. LECONTE

A M. LE DOCTEUR ENRIQUEZ

A M. LE DOCTEUR AVIRAGNET

A M. LE DOCTEUR THIROLOIX

A M. LE DOCTEUR BOUFFE DE SAINT-BLAISE

A M. LE DOCTEUR P.-L. MARIE

CHEF DE LABORATOIRE DES HOPITAUX

A LA MÉMOIRE DU DOCTEUR P.-J. MÉNARD

INTERNE, MÉDAILLE D'OR DES HOPITAUX

Action des Eaux résiduaires sur quelques Bacilles pathogènes intestinaux et sur le Bacille du Côlon

Les épidémiologistes signalent depuis longtemps l'origine hydrique de certaines épidémies de choléra, de fièvre typhoïde et de dysenterie bacillaire. La prophylaxie de ces maladies repose, pour une grande part, sur la présence des bactéries pathogènes dans les eaux souillées. Les services d'hygiène publique attachent une importance capitale à la surveillance et à la stérilisation des eaux destinées à l'alimentation.

Cependant, si le vibrion cholérique est aisément décelé dans les eaux par les techniques les plus simples, les bacilles typhiques et paratyphiques, le bacille dysentérique, quels que soient les procédés et les milieux de culture employés, n'ont été qu'exceptionnellement rencontrés.

Il faut donc admettre que ces bactéries pathogènes introduites dans les eaux avec les excréta y disparaissent ou persistent sous une forme que nos procédés bactériologiques habituels ne peuvent mettre en évidence.

Nous ne rappellerons pas les travaux consacrés à la recherche du bacille typhique dans les eaux, ni les hypothèses suscitées par le résultat négatif de ces recherches ; mais il est, dans l'analyse bactériologique des eaux, un fait d'observation courante sur lequel nous insisterons. Le bacille du côlon est abondant dans les selles humaines et animales ; or, l'analyse des eaux pratiquée selon une technique usuelle (isolement en gélatine) nous montre que le bacille du côlon est en grand nombre dans certaines eaux pauvres en excreta, tandis qu'il est rare dans les eaux d'égouts plus riches en matières fécales que les précédentes.

Cette constatation est à l'origine de notre travail.

Plan de ce Travail

Nous nous sommes proposé d'étudier l'action des eaux résiduaires filtrées à travers une bougie Chamberland sur des cultures de bactéries pathogènes de l'intestin, et sur celles du bacille du côlon.

Dans une première partie, nous montrerons l'action de ces filtrats sur le bacille dysentérique, les bacille typhique et paratyphiques, le vibron cholérique et le bacille du côlon.

Les résultats obtenus nous ayant incité à limiter nos recherches au bacille du colon, ce sont ces expériences que nous présenterons dans une seconde partie.

Technique

Avant de décrire les expériences, nous indiquons la technique employée.

MATÉRIEL DE FILTRATION

La filtration à travers les bougies de porcelaine est une opération courante en bactériologie. Les appareils classiques donnent toute satisfaction. Ils sont cependant volumineux, fragiles et leur montage demande beaucoup de soins et de temps. Il n'eût pas été possible d'effectuer avec ces appareils le nombre élevé de filtrations (près de deux cents en six semaines) nécessaires à nos essais.

Cet écueil a été évité par l'emploi d'un appareil en bronze moulé (app. de R. Legroux) présentant la forme d'une croix que l'on place dans l'orifice des récipients de verre.

Tubulure de bronze à deux voies (fig. 1).

Cette tubulure de bronze est parcourue par deux circuits de canalisations distincts. L'un A B, par lequel on aspire l'air des flacons au moyen de l'ap-

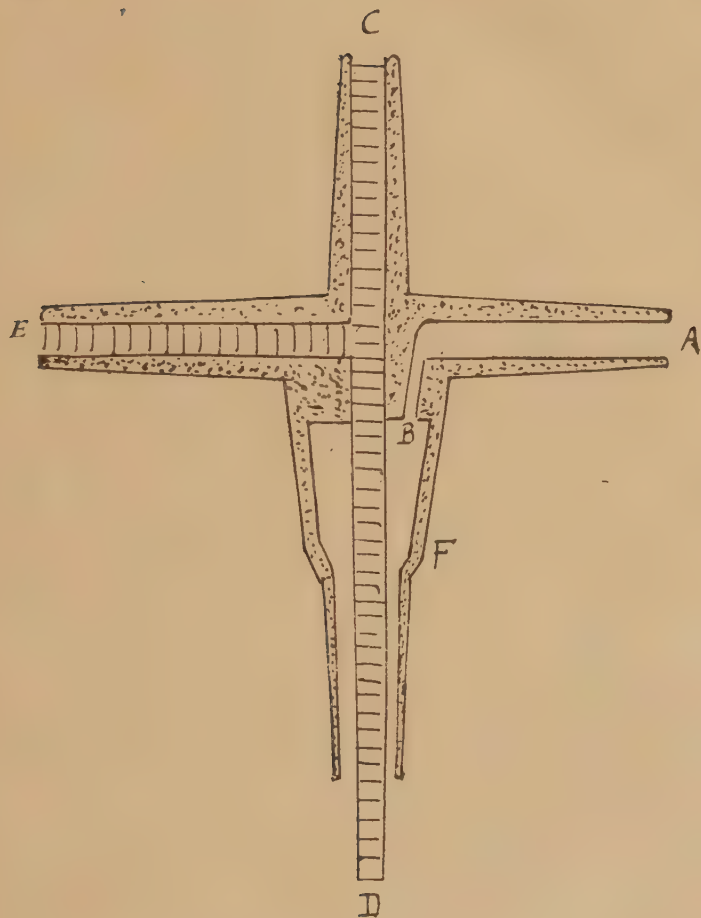


FIG. 1

pareil à vide, décrit un trajet à angle droit ; l'autre est constitué par un canal vertical C D d'où se détache perpendiculairement à la partie moyenne une branche E. L'orifice latéral E en communication avec la bougie conduit le liquide filtré qui s'écoule

par l'orifice D dans le récipient de récolte. L'orifice C est bouché par un petit fausset de caoutchouc ou reçoit un tube de caoutchouc terminé par une effilure de verre destinée à la répartition du liquide filtré. Pour la commodité de l'opération, la bougie peut être montée sur les tétines C ou E ; il s'ensuit que, l'effilure répartitrice sera placée sur la tétine libre.

Cette tubulure est garnie en F d'un anneau de caoutchouc par l'entremise duquel on la fixe à la verrerie choisie. Ce segment de l'appareil présente en effet un profil conique qui permet de l'adapter à tous les récipients d'usage courant dans les laboratoires quel que soit le diamètre intérieure de leur orifice : 15 à 30 millimètres (tubes à essai ou flacons goulots).

Toutes les parties de l'appareil sur lesquelles on place du caoutchouc doivent être abondamment talquées pour éviter l'adhérence du caoutchouc au métal après un temps prolongé.

Petit appareil à filtration (fig. II).

A l'extrémité supérieure d'un tube à thermomètre *t* long de 12 à 13 centimètres et qui plonge jusqu'au fond d'une petite bougie Chamberland L de 7 centimètres de hauteur B, on adapte un bouchon de caoutchouc percé *k* que l'on fixe dans l'orifice de la bougie. L'extrémité du tube de verre est reliée par un tube de caoutchouc *o* à l'orifice E de la tubulure.

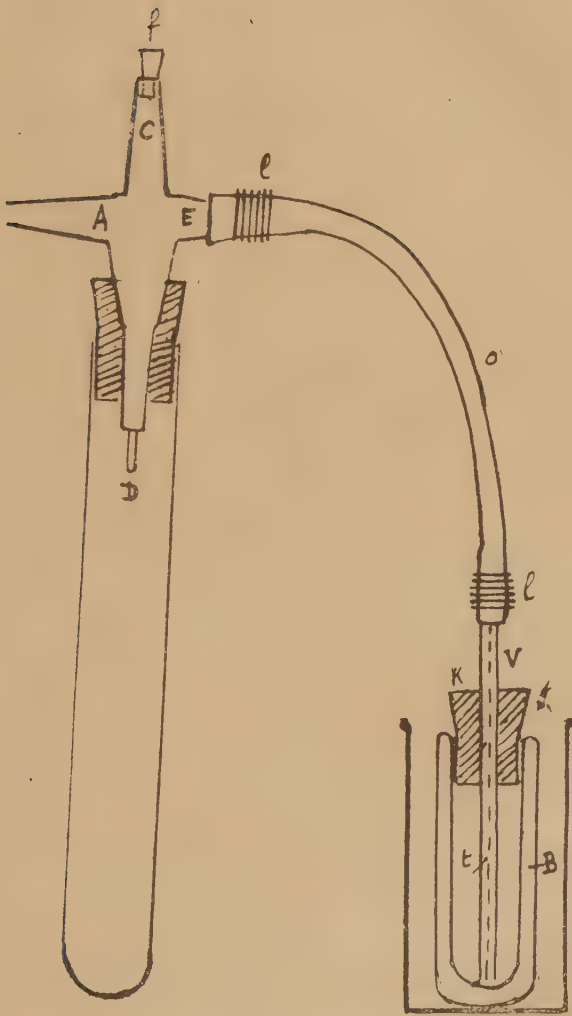


FIG. 2

Ce tube de caoutchouc demi-vidé d'un diamètre de 7 millimètres a une longueur suffisante pour qu'on puisse faire reposer sur le même plan le fond du ré-

cipient dans lequel plongera la bougie et le fond du tube à essai sur lequel est fixée la croix de bronze. On aura soin de laisser dépasser de 4 à 5 centimètres le tube de verre au-dessus du bouchon, afin qu'une petite hauteur de verre *v* demeure visible, ce qui permet de s'assurer de la montée du liquide dès les premiers temps de la filtration. On introduit dans l'orifice A un petit bourdonnet de coton, puisque par cet orifice l'intérieur de l'appareil communique avec l'air extérieur. Enfin des ligatures au fil de lin *l* sont posées sur tous les raccords des tubes de caoutchouc.

Après stérilisation, et dès la sortie de l'autoclave, on peut pour plus de sûreté, paraffiner le joint unissant le bouchon de caoutchouc *k* à la bougie ainsi que le joint du fausset de caoutchouc *f*, sur la tubulure C.

La filtration terminée et dans le cas de montage sans effilure répartitrice, on prépare un tube à essai flambé portant son coton. On saisit le tube de l'appareil de la main gauche ; de la main droite on retire l'appareil de bronze et on lui substitue sur l'orifice du tube ainsi ouvert le bourdonnet d'ouate du tube flambé.

Nous indiquerons plus loin la technique de répartition du liquide filtré au moyen de l'effilure répartitrice.

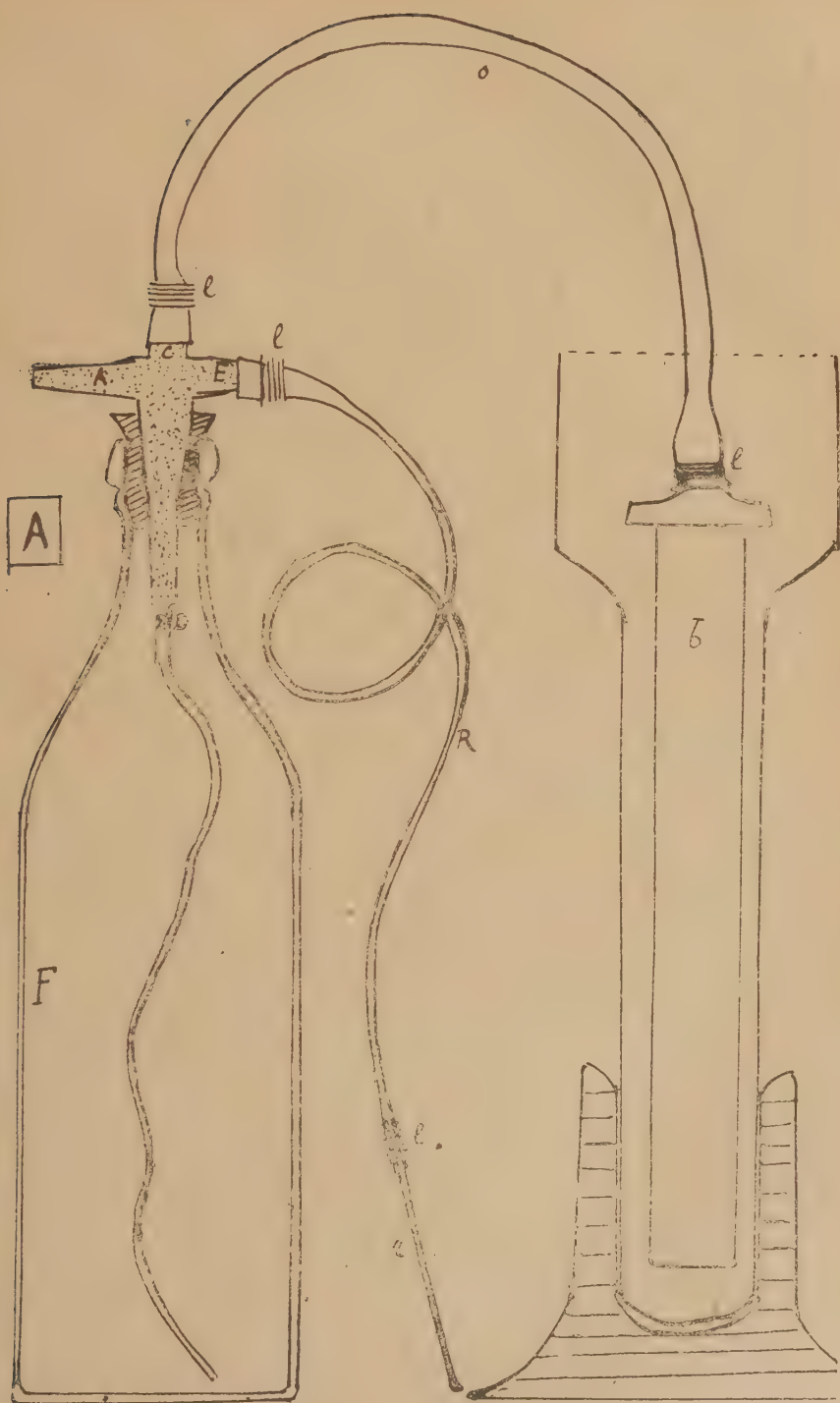


FIG. 3 A

Appareil à filtration pour 200 à 250 cc (Fig III).

L'appareil que nous venons de décrire correspond à l'appareil classique dit « à essai de toxine ». Mais il ne permet de filtrer que de petits volumes de **liquide**. Il est donc nécessaire, si le volume de liquide à filtrer est plus considérable, d'employer le dispositif suivant :

La monture de bronze est fixée dans le goulot d'un flacon F de volume nécessaire (fig. III A). La tubulure D est prolongée par un tuyau de caoutchouc demi-vide de 5 millimètres de diamètre qui descend jusqu'au fond du récipient F et permettra de répartir ultérieurement la totalité du liquide filtré.

L'effilure répartitrice *r* est reliée à l'appareil de bronze par un tuyau de caoutchouc R adapté à la tétine C ou E.

On monte sur la tubulure C ou E (fig. III B) par l'entremise d'un tuyau de caoutchouc demi-vide *o* de 7 millimètres de diamètre extérieur une bougie Chamberland L de 6 centimètres de hauteur : B. La porosité de cette bougie : L₁, L₂, L₃, etc..., sera choisie suivant la nature du liquide à filtrer.

Le montage du tube à thermomètre *t* d'une longueur de 22 centimètres plongeant dans la bougie et sa fixation à la croix de bronze se font selon les indications données pour l'appareil précédent.

Les tubes de caoutchouc sont fixés par une ligature au fil de lin.

L'appareil tout monté est stérilisé à l'autoclave.

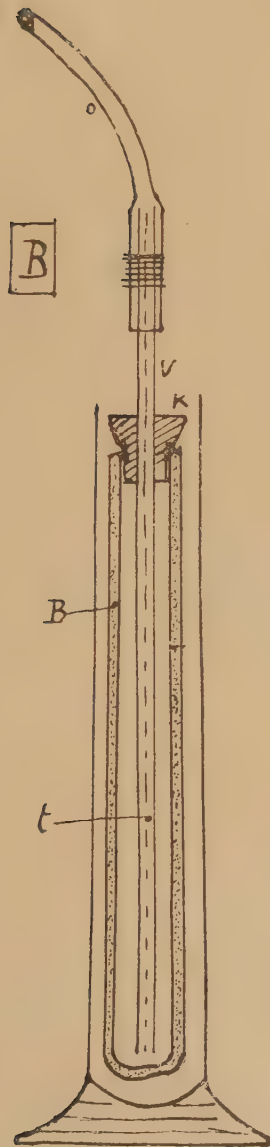


FIG. 3 B

Les récipients de verre et l'effilure répartitrice ont été préalablement mouillés pour assurer leur parfaite stérilisation.

Grand appareil permettant de filtrer 500 cc. à 1 litre (fig. III A).

Cet appareil peut être monté comme le précédent avec une bougie Chamberland à tétine de type F grand modèle *b*. On relie la bougie à la tubulure C au moyen d'un tube de caoutchouc demi-vide *o* de 15 millimètre de diamètre extérieur et de 8 millimètres de diamètre intérieur. Mais ce dispositif offre un inconvénient : une partie du liquide filtré reste dans la bougie à la fin de l'opération. Il est donc **préférable d'adopter** le procédé indiqué par Chamberland dit de la bougie renversée.

Appareil à bougie renversée. Montage nouveau (fig. IV).

La bougie B est fixée à la tubulure C par l'entremise d'un tuyau de caoutchouc *t* de 10 centimètres de longueur. L'effilure répartitrice est raccordée à l'appareil par un tuyau de caoutchouc demi-vide de 7 millimètres de diamètre. On adapte à l'orifice D un tuyau de caoutchouc plongeant jusqu'au fond du récipient de verre.

La bougie renversée est introduite dans un cylindre de laiton L mesurant trente centimètres de hau-

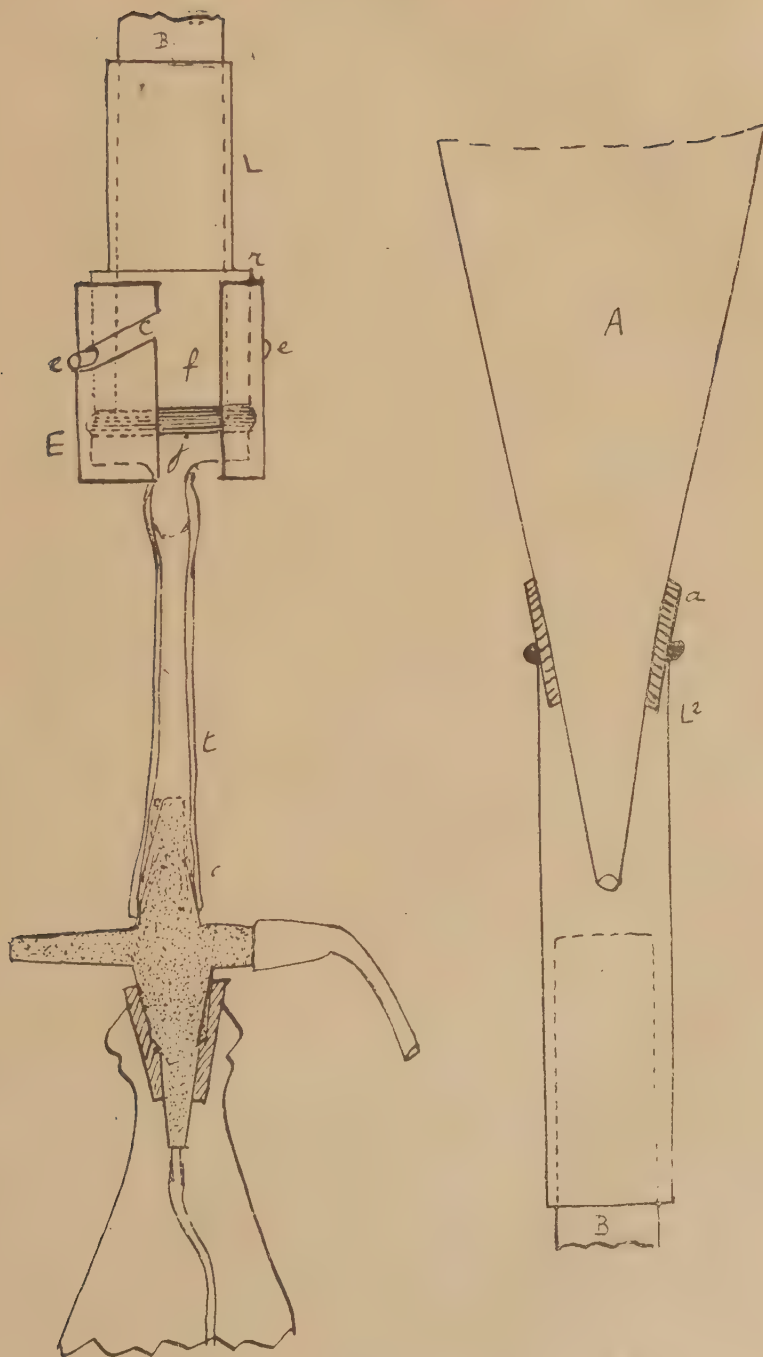


FIG. 4

teur sur 3 centimètres 5 de diamètre intérieur auquel elle est fixée par une embase E.

Le cylindre présente à son extrémité inférieure un renforcement *r* sur lequel sont fixés deux ergots *e* qui permettent, par l'intermédiaire d'un joint de caoutchouc *j* une fermeture hermétique sur la tête de la bougie

L'embase est creusée de deux encoches obliques *c* qui permettent de réaliser la fermeture dite « en baïonnette ». Une fente *f* de 12 millimètres de largeur a été ménagée sur toute la hauteur de la pièce pour permettre d'introduire la bougie montée sur l'appareil à filtrer, et après sa stérilisation, dans le cylindre de métal.

Ce dispositif permet d'utiliser la même monture métallique avec un grand nombre d'appareils à filtrer tandis que le système Chamberland doit être monté et stérilisé sur chaque appareil.

Le cylindre de laiton sera libéré, pour être stérilisé, du tube de caoutchouc qui le relie à la tubulure C de la croix de bronze. On aura soin de desserrer la fermeture à baïonnette avant de stériliser à l'autoclave.

Avant la filtration, on adapte par l'intermédiaire d'un anneau de caoutchouc *a* un entonnoir d'aluminium A à l'extrémité libre L₂ du cylindre de laiton. On constitue ainsi un réservoir dans lequel on verse au début de l'opération la quantité totale du liquide à filtrer, 250 cc., 500 cc. ou 1 litre.

On maintient aisément l'appareil vertical au moyen d'une pince fixée à un support.

Les différents modèles que nous venons de décrire ne sont ni fragiles ni volumineux. Il est, en conséquence, facile de préparer à l'avance une réserve d'appareils. Ils ne nécessitent pas l'emploi de récipients de verre de type déterminé toujours fragiles et difficiles à nettoyer. Ils utilisent le procédé de filtration dit « de dehors en dedans » qui permet un décapage de la bougie plus facile que si l'on filtre de dedans en dehors. Ils permettent comme nous l'exposerons plus loin, une répartition aseptique du liquide filtré au moyen de l'effilure répartitrice.

Nettoyage des appareils à filtration.

Après usage, l'appareil à filtration est démonté sans qu'il soit nécessaire de le stériliser. Le boudonnet de coton introduit dans la tubulure A est retiré. La croix de bronze est rincée par un fort courant d'eau que l'on fait pénétrer successivement par la tubulure A puis par la tubulure C.

Les bougies sont stérilisées, nettoyées, régénérées et contrôlées.

APPAREILS A VIDE

Appareils à chute d'eau (Fig. V).

Si le volume de liquide à filtrer est peu considérable et si ce liquide traverse aisément la paroi poreuse de la bougie, on peut réaliser l'aspiration au moyen de la dépression provoquée par la chute de l'eau d'un flacon de 5 à 10 litres F à deux orifices. L'orifice supérieur S est fermé par un bouchon de caoutchouc B que traverse un tube de verre coudé V sur

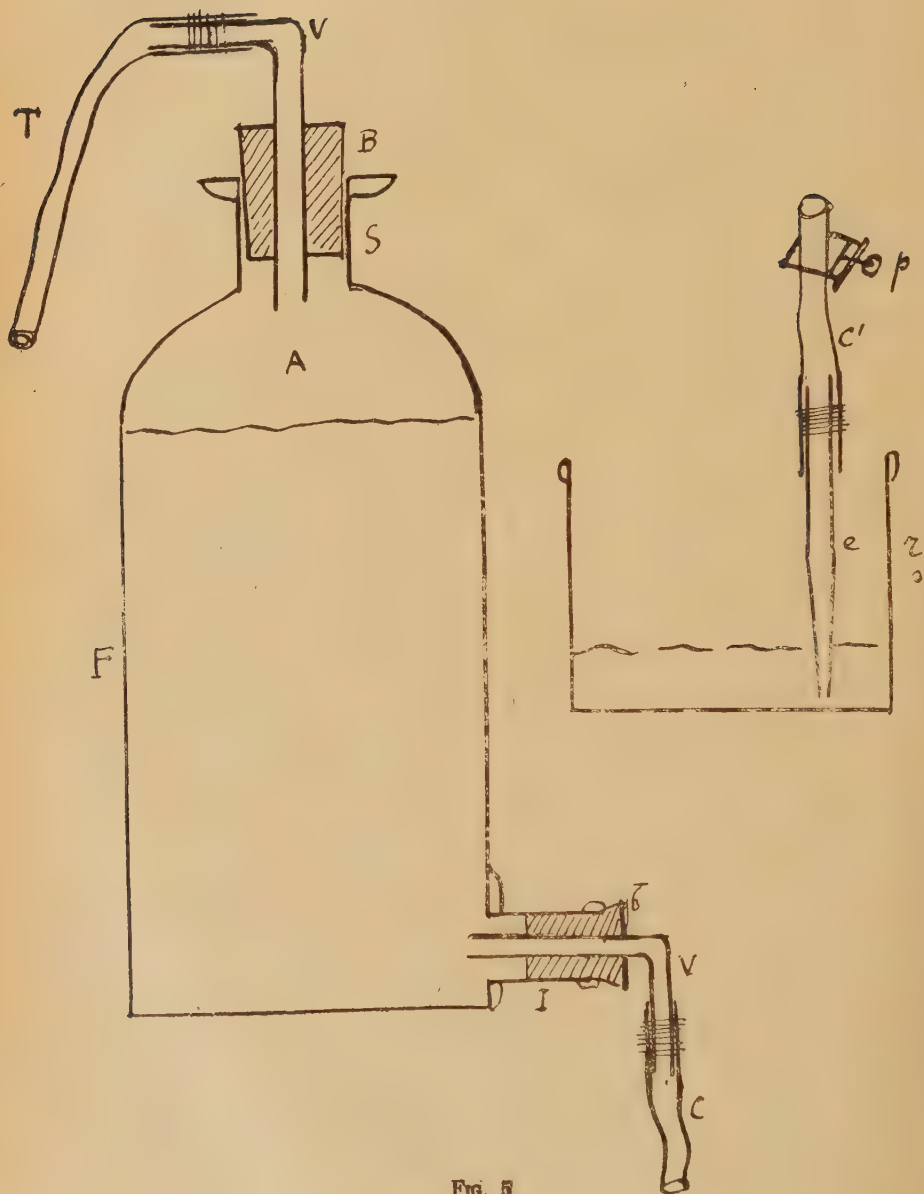


FIG. 5

lequel on adapte un tube de caoutchouc demi-vide T d'une longueur de deux mètres ou plus et dont la seconde extrémité sera reliée à l'appareil à filtration. Dans l'orifice inférieur I on ajuste un bouchon de caoutchouc *b* percé d'un trou pour le passage d'un tube de verre coudé V auquel on fixe par une solide ligature de fil un tuyau de caoutchouc demi-vide C de longueur variable selon la hauteur où sera placé le flacon F. L'extrémité libre *c'* de ce caoutchouc est terminée par une effilure de verre ouverte *o* qui plonge d'un à deux centimètres dans un récipient *r* contenant de l'eau, afin d'éviter les rentrées d'air.

Le flacon rempli d'eau est placé à une certaine hauteur, 1 mètre 50 à 2 mètres 50, de façon que la chute d'eau entraîne une aspiration suffisante. L'écoulement de l'eau produit une aspiration de l'air du flacon au-dessus de la surface du liquide A.

Théoriquement une chute d'eau de 10 m. 33 de hauteur est capable de produire un vide correspondant à celui produit au-dessus de la colonne de 0 m. 76 de mercure. Dans le cas du flacon dont nous nous servons il intervient de nombreux facteurs qui empêchent d'obtenir un tel vide : la nature du liquide, la température, le diamètre des tuyaux, le volume de la chambre d'air, etc. Nous avons expérimenté au moyen d'un flacon de 12 litres de capacité rempli d'eau mais contenant encore environ 700 cc. d'air au-dessus du liquide, la température extérieure était de 27°, les tuyaux de chute de 5 millim. de diamètre. Le tableau ci-joint indique le vide que l'on peut

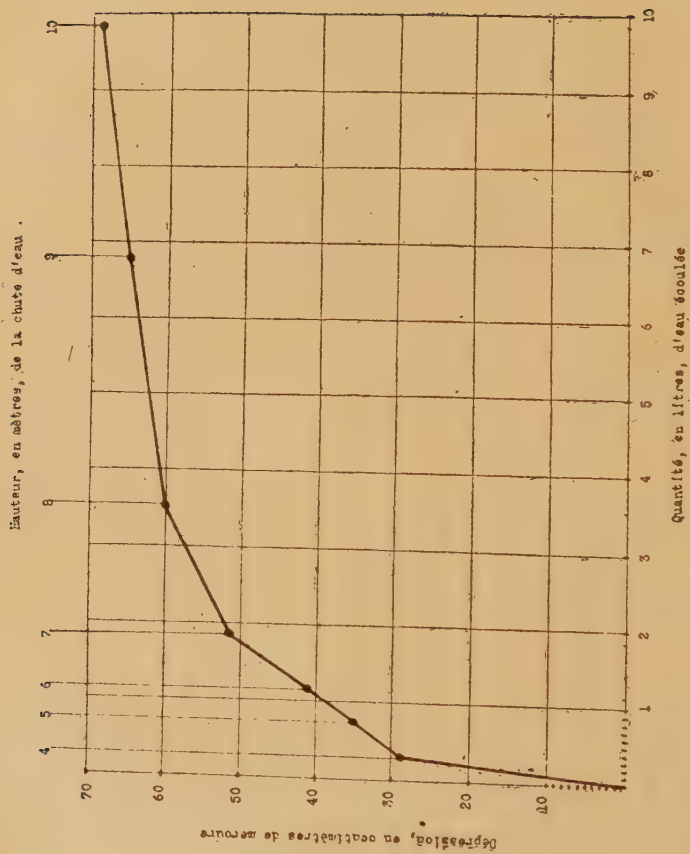


Fig. 6

ainsi obtenir, on voit qu'au moyen d'une chute de 2 à 6 m. il est facile d'utiliser ce procédé pour filtrer à travers une bougie de porcelaine (Fig. VI).

On arrête l'aspiration en plaçant une pince à vis sur le tuyau d'écoulement de l'eau.

Pour éviter les dépenses qu'entraînent les grandes longueurs de tuyaux de caoutchouc demi-vides, on les remplace par des tubes de verre creux. Seuls les joints aux coudes de verre V, à la croix de bronze et à effilure *o* sont réalisés au moyen de tubes de caoutchouc.

C'est ce procédé que nous avons systématiquement utilisé pour filtrer des liquides très fluides comme les eaux d'égouts ou les bouillons de nos cultures. Les résultats sont parfaitement comparables d'une filtration à une autre et l'on évite ainsi les inégalités de pressions si fréquentes dans les canalisations de ville.

On peut encore employer cet appareil pour filtrer de grandes quantités de liquides traversant facilement les bougies.

Lorsque le flacon F est vide, il suffit d'adapter l'extrémité libre C¹ du tuyau d'écoulement à un robinet de canalisation après avoir laissé ouvert le tuyau T. Après l'ouverture du robinet, l'eau du fait de sa pression monte dans le récipient et le remplit. On doit surveiller avec soin ce remplissage pour éviter que l'eau pénétrant rapidement dans le flacon ne déborde par le tuyau T.

Trompe à eau.

Pour filtrer les liquides peu fluides, sérosités, vieilles cultures en bouillon, l'emploi de la trompe à vide qui permet des dépressions de 30 à 40 millimètres de mercure est plus commode.

Il est de règle d'interposer entre la trompe et l'appareil à filtration un flacon à deux tubulures pour se mettre à l'abri des retours d'eau qui pénétreraient dans le récipient du liquide filtré.

Nous avons renoncé à ce dispositif encombrant qui, en fait, offre peu de sécurité si le retour d'eau est abondant. Cet accident est supprimé par l'emploi d'un système automatique de sécurité mis en service par R. Legroux.

Appareil automatique de sécurité (Fig. VII).

L'appareil est constitué par deux baguettes de verre creux A et B (verre à pipette) traversant un bouchon de caoutchouc E fixé à frottement dur sur un tube de verre C de 25 millimètre de diamètre et 90 à 100 millimètres de hauteur.

Le tube A déborde de quelques millimètres le bouchon à l'intérieur du tube C. Son extrémité extérieure, longue de 3 à 4 centimètres, est reliée à la trompe par un tube de caoutchouc demi-vide. Le tube B descend un peu plus profondément, 15 à 20 millimètres dans le récipient C. On adapte à l'extrémité intérieure du tube B un tuyau de gomme pure g, long de 6 à 7 centimètres fermé à son extrémité inférieure par un fragment de baguette de verre plein D. La partie extérieure du tube de verre longue de 3 à 4 centimètres, reçoit un tube de caoutchouc fixé à l'appareil de filtration.

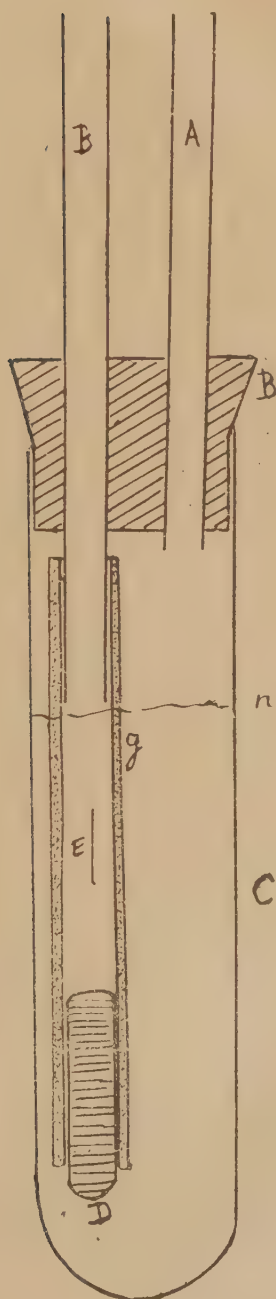


FIG. 7

Il a été pratiqué dans le tube de gomme un petit orifice linéaire de la façon suivante ; on introduit un bistouri dans la lumière du tube qui est alors posé à plat sur une surface de bois lisse, du côté où se trouve le tranchant du bistouri. Par une pression légère, on détermine avec le tranchant une incision nette d'une longueur de 2 à 3 millimètres.

Pendant sa mise en service, l'appareil doit toujours être rempli d'eau jusqu'au niveau *n* pour empêcher la dessication à l'air du tube de gomme.

Lorsque la dépression se fait dans l'appareil à filtration, et tant qu'elle est constante, le tube de gomme reste cylindrique, l'orifice E demeure béant, l'air s'échappe et est aspiré par la trompe. En cas d'arrêt d'aspiration par la trompe, l'eau contenue dans la canalisation est aspirée par le vide fait dans l'appareil à filtration et reflue par le tube A. Mais immédiatement le tube de gomme E est aplati par la pression atmosphérique et les deux lèvres de la fente E s'accolent supprimant ainsi toute communication entre l'eau contenue dans le tube C et l'appareil à filtration. On évite ainsi tout retour d'eau.

FILTRATS

Répartition du liquide filtré (Fig. III A).

Nous avons signalé la facilité qu'offraient les appareils décrits pour la répartition aseptique du liquide filtré au moyen de l'effilure répartitrice. La filtration terminée, on place une pince à vis sur le tube de caoutchouc *o* qui relie la bougie à l'appareil de bronze. La bougie est retirée après sec-

tion de la ligature. On sectionne d'un trait de couteau à verre l'extrémité de l'effilure que l'on flambe dans la flamme d'un bec Bunsen. On souffle par la tétine A au moyen d'une soufflerie. Le liquide filtré gagne par le tube de caoutchouc fixé en D le canal vertical qu'il suit jusqu'à la tubulure E par laquelle il s'écoule et arrive à l'effilure répartitrice.

On peut aussi faire écouler le liquide par l'effilure répartitrice en soufflant avec la bouche en A et amorcer ainsi le siphon F E R. Pour faciliter cet écoulement, il est nécessaire que le tuyau de caoutchouc R ait une longueur supérieure à la hauteur du récipient F.

Contrôle des filtrats.

La stérilité de chaque filtrat est éprouvée par ensemencement en bouillon et sur gélose. Après 24 heures de séjour à l'étude à 37°, les milieux sont conservés à la température du laboratoire.

MILIEUX DE CULTURE

Nous avons employé les milieux de culture usuels, ou bouillon et gélose à la peptone Martin alcalinisés à Ph + 7,6.

Cultures en bouillon.

Pour chaque essai, le filtrat des eaux résiduaires est mélangé à du bouillon ordinaire et ensemencé avec une quantité variable d'une émulsion en bouillon d'une culture jeune sur gélose du ger-

me considéré. Les bouillons sont mis à cultiver à 37°.

Cultures sur gélose.

On ensemence immédiatement une petite partie du mélange bouillon + filtrat qui vient de recevoir de l'émulsion bactérienne sur une gélose dite gélose témoin.

Une gélose dite d'épreuve est ensemencée avec le prélèvement fait sur la culture en bouillon + filtrat âgée de 16 à 18 heures.

Ces deux géloses sont portées non capuchonnées à l'étuve à 37°, puis après un séjour de 16 à 18 heures, conservées à la température du laboratoire.

Il était à prévoir que l'action des filtrats d'eaux résiduelles ne serait pas égale sur tous les germes d'une même culture, et il convenait de procéder à l'ensemencement des géloses selon la technique de séparation des germes pratiquée au laboratoire de microbie technique de l'Institut Pasteur. « Remplir l'anse de platine du produit dont on veut séparer les microbes. Porter l'anse au fond du tube, l'essuyer avec insistance à ce niveau sur une hauteur d'environ deux centimètres de milieu nutritif, puis soulevant l'anse la porter quelques millimètres au-delà pour tracer par un mouvement lent jusqu'à l'orifice du tube une ligne ininterrompue de zig-zag sans craindre de repasser deux fois sur la même ligne. Par ce procédé, la plus grande partie du produit bactifère est déposé sur la partie inférieure du milieu et le

reste de la surface estensemencé de telle sorte que les divers germes donnent des colonies séparées les unes des autres. Après 18 heures de culture, les premières stries présentent des colonies confluentes, mais les suivantes donnent des colonies isolées.

EAUX RÉSIDUAIRES

Les eaux résiduaires ont été prélevées à l'usine de Clichy, au débouché du collecteur des égouts (prélèvement en surface). Ces eaux ont été filtrées à la bougie Chamberland F sous dépression moyenne de 20 centimètres de mercure, avec le grand appareil à bougie renversée antérieurement décrit.

Action des Eaux d'Egouts sur les Bacilles pathogènes intestinaux et sur le Bacille du Côlon

TECHNIQUE

Dés eaux d'égouts prélevées au mois de juin à l'usine de Clichy, sont conservées à la température et à la lumière diffuse du laboratoire. Une portion de ces eaux est prélevée et filtrée à la bougie Chamberland F, après 12 heures, 2,3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14 et 16 jours de séjour au laboratoire.

Cinq centimètres cubes d'eaux filtrées sont ajoutés à cinq centimètres cubes de bouillon ordinaire en tube de 17 millimètres. Ce mélange estensemencé avec une goutte d'émulsion d'une anse de platine dans deux centimètres cubes de bouillon d'une culture à 37° sur gélose âgée de 12 à 16 heures.

Après 16 heures de culture à l'étuve à 37°, ce mélange est filtré à la bougie Chamberland L³ (petit appareil à filtration, dépression de 10 centimètres de mercure par l'appareil à chute d'eau). Le nouveau filtrat est mélangé à parties égales à cinq centimètres cubes de bouillon,ensemencé et mis à

cultiver dans les mêmes conditions que le précédent.

Pour chaque essai, on ensemente une gélose témoin à une gélose d'épreuve avec une anse de platine du mélange à étudier.

Les filtrations en série et les ensemencements sont poursuivis jusqu'au moment où les cultures sur gélose présentent des caractères normaux.

RÉSULTATS

L'action des filtrats d'eaux résiduaires a été inégale sur les différents germes éprouvés : bacille dysentérique, bacilles typhique et paratyphiques A et B, vibrion cholérique et bacille du côlon.

BACILLES PATHOGÈNES INTESTINAUX

Bacille dysentérique Shiga.

L'action des filtrats d'eaux résiduaires est remarquablement rapide et puissante sur le bacille de Shiga. La lyse est obtenue d'emblée avec les premiers filtrats des eaux conservés plus de 5 jours au laboratoire, et avec le deuxième filtrat des cultures en série des eaux plus jeunes.

Les cultures sur gélose n'offrent plus leur aspect classique. Ce ne sont plus des colonies arrondies à bord festonné, surélevées, blanc bleuté, humides, à centre légèrement opaque, mais des colonies affaissées de taille inégale, à contour irrégulier. On note

des colonies échancrées sur un large secteur, d'autres découpées en étoile ou réduites à un croissant ; plus rarement la perte de substance siège en pleine colonie.

Bacille typhique.

Le bacille typhique peut être lysé par l'action des filtrats d'eaux d'égouts ; mais il est plus résistant que le bacille dysentérique. Pour obtenir la lyse, il faut atteindre la troisième filtration en série de la culture mise en présence des filtrats d'eaux d'égouts de 1 ou 2 jours, le deuxième filtrat avec les eaux âgées de 3 à 8 jours ; avec les eaux conservées au laboratoire pendant 10 à 16 jours, la lyse est observée dès le premier contact avec les filtrats.

Les modifications macroscopiques des colonies au stade prélytique sont en tous points comparables à celles que nous avons notées avec le bacille dysentérique.

Bacilles paratyphiques.

Le bacille paratyphique B présente, toutes conditions égales, les mêmes aspects de modifications que le bacille typhique.

Le bacille paratyphique A est plus résistant ; il se comporte vis-à-vis des filtrats comme le bacille du côlon que nous étudierons ultérieurement.

Nous trouvons là un caractère qui permet de rapprocher le bacille paratyphique B du bacille typhique, alors que le bacille paratyphique A serait plus voisin du bacille du côlon.

Vibrio cholérique.

La lyse du vibrio cholérique ne peut être obtenue quel que soit l'âge des eaux résiduaires et le nombre de filtrations en série après culture. Nous n'avons jamais observé sur les colonies de vibrions cholériques ces pertes de substance qui existent sur les colonies de bacilles dysentérique typhique et paratyphiques et que nous retrouverons avec le bacille du colon.

Cependant sur les géloses d'épreuve des derniers filtrats en série des eaux les plus âgées, on remarque des modifications morphologiques d'un type particulier déjà vues par R. Legroux sur les cultures de collection et décrites en collaboration avec J. Magrou.

Ces colonies atypiques sont peu nombreuses et se présentent parmi les colonies normales légèrement bombées, blanchâtres, humides, homogènes, sous l'aspect de petits éléments plissés mesurant quelques dixièmes de millimètre de diamètre. Ces colonies sont affaissées, blanchâtres, partiellement opaques, sèches. Du centre punctiforme, à peine surélevé se détachent des plis radiés plus ou moins irrégulièrement distribués. Les plis, formation caractéristique de ce type de colonies, sont franchement blancs et opaques sur un fond transparent à peine coloré. Ils s'épuisent directement sur la gélose ou aboutissent à une mince bande périphérique également blanche et opaque.

Peu à peu, le caractère sec et plissé de la colonie s'exagère et en une dizaine de jours on n'observe plus qu'une mince pellicule ridée.

Aspect microscopique.

A l'examen sur frottis coloré d'une parcelle de colonies, on ne voit que de volumineuses formes en cocci prenant faiblement le colorant. D'autres présentent l'aspect caractéristique dit « en crottes de mouches » qu'offrent les vibrions cholériques observés au cours du phénomène de Pfeiffer.

Il est assez facile d'obtenir une culture pure de colonies plissées par ensemencements de séparation et d'isolement sur gélose.

Nous constatons ainsi, quant aux bacilles pathogènes intestinaux, la parfaite concordance des résultats obtenus *in vitro* avec ceux fournis par l'analyse des eaux.

Seul le vibrion cholérique résiste à l'action des filtrats des eaux résiduaires ; il ne peut être lysé. C'est également le seul germe pathogène intestinal que décèle facilement l'analyse des eaux.

Nous avons déjà dit l'extrême rareté de la présence des bacilles dysentériques, typhique et paratyphiques dans les eaux. Ce sont aussi les bactéries sur lesquelles les filtrats se sont montrés actifs ; phase prélytique pendant laquelle la bactérie perd ses caractères classiques de culture, puis à un degré de plus, lyse et destruction du bacille.

BACILLE DU COLON

Le bacille du colon est plus sensible à l'action lytique des filtrats d'eaux résiduelles que le vibron cholérique ; il est plus résistant que le bacille dysentérique et les bacilles typhique et paratyphique B.

La lyse n'est obtenue qu'avec le filtrat de la cinquième culture en série en présence des eaux de douze heures, avec le quatrième filtrat si les eaux ont 2 ou 3 jours de séjour au laboratoire, avec le troisième filtrat des eaux de huit jours et le deuxième filtrat des eaux de 10 à 16 jours.

Comme pour le bacille dysentérique, les bacilles typhique et paratyphiques A et B, nous avons noté à la phase prélytique des colonies échancrées et découpées. Mais à côté de ces colonies mutilées on trouve des colonies présentant un autre type de modifications ; ce ne sont plus comme pour le vibron cholérique des dégradations de type sec et plissé, mais des modifications de type gras muqueux ou coulant.

Cet aspect gras ou coulant est en tous points comparable à celui des colonies isolées des eaux suspectes par la méthode de Péré ou de Vincent.

Jusqu'à ces dernières années, ces cultures grasses ou coulantes n'ont été étudiées que par un petit nombre d'auteurs. Décrites pour la première fois par Mori, en 1888, sous le nom de *Bacillus Capsulatus*, elles sont retrouvées et identifiées au bacille

de Friedlander en 1896, par Grimbert qui signale leur fréquence dans les eaux souillées. Enfin, après la guerre, par le contrôle de plus de vingt mille analyses d'eaux des régions libérées, analyses d'eaux faites au moyen du bouillon phéniqué, R. Legroux établit la présence constante de ce germe dans les eaux riches en excréta et oppose ce fait à la rareté de sa présence dans les eaux pauvres en excréta où se rencontre surtout le bacille du côlon.

Les colonies muqueuses grasses ou coulantes obtenues *in vitro* en traitant le bacille du colon par les eaux résiduaires filtrées doivent elles être identifiées au bacille du colon ou au bacille de Friedlander? Quelle signification convient-il d'accorder à la présence de ce germe dans les eaux? C'est ce que nous allons exposer.

Action des Eaux d'Egouts spécialement sur le Bacille du Côlon

TECHNIQUE

Les eaux d'égouts ont été prélevées à l'usine de Clichy au mois de juin 1922. D'autres prélèvements furent opérés au mois d'octobre ou de novembre. Nous n'avons jamais noté cette odeur fade et désagréable qu'on attribue aux eaux résiduaires, mais plutôt une légère odeur aromatique comparable à celle que dégage une eau savonneuse.

Après un séjour de 1, 3, 5, 7 et 9 jours à la température et à la lumière diffuse du laboratoire, ces eaux sont filtrées à la bougie Chamberland F (appareil à bougie renversée) sous une dépression de 20 centimètres.

Dans les essais précédents, le contact des bactéries avec le filtrat initial des eaux résiduaires conservées un temps variable au laboratoire avait été de courte durée (moins de 24 heures). Pour l'expérimentation particulière du bacille du côlon nous avons notablement prolongé ce temps de contact.

A 100 cc. de bouillon nutritif en fiole Fourneau de 500 cc. on ajoute 100 cc. de filtrat. Ce mélange est ensemencé avec le quart d'une culture de bacille du côlon sur gélose : culture à 37° âgée de 16 heures. La fiole Fourneau est portée à l'étuve à 37° où elle demeurera pendant toute la durée des essais.

Tous les deux jours, pendant 23 jours, on prélève dans chacune des cinq fioles Fourneau 10 cc. de culture. Ce volume est filtré (petit appareil de filtration, appareil à vide à chute d'eau). Le filtrat est mélangé en proportions qui varieront au cours des essais à du bouillon, sous un volume total de 10 cc. en tube de 17 millimètres.

L'ensemencement est fait avec un nombre de gouttes variable, d'une émulsion en 2 cc. de bouillon d'une anse de platine d'une culture sur gélose à 37° âgée de 16 heures.

Après 16 à 18 heures de séjour à l'étuve à 37°, le mélange est filtré et traité comme le précédent.

En résumé, pour chaque filtrat d'eaux conservées plus ou moins longtemps au laboratoire, il est fait tous les deux jours un filtrat en partant de la culture en fiole Fourneau, et ce filtrat après 16 à 18 heures de contact à l'étuve avec la souche et du bouillon est filtré. Ce dernier filtrat est traité comme le précédent, pour une dernière épreuve. Pour 5 eaux d'âge différent éprouvées pendant 23 jours on aura donc un total de 120 filtrats.

Conditions d'apparition des colonies modifiées.

Nous avons dû agir par tâtonnement pour obtenir l'apparition de cultures grasses ou coulantes sur les géloses.

Les résultats que fournissait une épreuve nous guidaient pour la conduite de l'épreuve suivante. Nous avons donc été amené à modifier peu à peu la technique. Le filtrat a été mélangé au bouillon dans la proportion de 1/2 à 1/6 en passant par les proportions intermédiaires.

La quantité de culture sur gélose émulsionnée dans 2 cc. de bouillon fut comprise entre une anse et cinq anses de platine de 2 millimètres de diamètre. Et le volume de cette émulsion introduit dans le mélange bouillon + filtrat passa de une anse à 5 gouttes.

Les géloses témoins ont étéensemencées avec un minimum d'une anse de mélange et un maximum de 6 gouttes. Ces volumes furent pour les géloses d'épreuve de 1 à 8 gouttes.

La culture sur gélose employée pour préparer l'émulsion d'ensemencement était dans la règle âgée de 16 heures avec variations extrêmes de 9 heures et 24 heures.

L'âge du mélange, au moment où furentensemencées les géloses d'épreuves n'a jamais été inférieur à 16 heures et ne dépassa pas 22 heures.

D'une façon générale, nous avons progressivement augmenté la quantité d'émulsion bacillaire

introduite dans le mélange bouillon + filtrat. Parallèlement, la quantité de filtrat ajoutée au bouillon devenait plus faible. Enfin nous avons ensemencé les géloses témoins et les géloses d'épreuve avec un volume progressivement croissant de mélange.

De l'ensemble des résultats, il ressort qu'un séjour de 16 à 22 heures à l'étuve du mélange bouillon + filtrat est suffisant pour obtenir la transformation grasse ou coulante.

L'âge de la culture employée pour préparer l'émulsion d'ensemencement du mélange ne doit varier que dans des limites assez étroites ; les meilleurs résultats furent notés avec des cultures âgées de 20 à 24 heures.

Quoi qu'il en soit, les colonies grasses ou coulantes sont plus fréquentes avec les filtrats des eaux conservées pendant 7 jours au laboratoire qu'avec celles conservées pendant 9 jours. Rares avec les filtrats des eaux de 5 jours, elles ont exceptionnelles avec les eaux plus jeunes.

Il est évident que ces indications n'ont qu'une valeur relative ; elles ne sont valables que pour la souche considérée, en l'espèce une souche de collection de bacille du côlon, souche J que nous décrirons plus tard. Elles sont sujettes à revision selon la souche éprouvée.

CARACTÈRES DES BACILLES AVANT LES EXPÉRIENCES

Nous exposerons, avant de présenter les résultats de nos expériences les caractères des bacilles que nous avons soumis à l'action des filtrats d'eaux d'égouts.

Nos premiers essais furent effectués avec un bacille de collection de l'Institut Pasteur : bacille du côlon J.

On sait combien certaines bactéries peuvent s'altérer par séjour prolongé sur un même milieu. C'est pour cette raison que nous avons contrôlé les résultats de nos premiers essais en les répétant avec un bacille du côlon récemment isolé des selles d'un adulte sain : bacille du colôn S.

Nous indiquerons aussi brièvement que possible les caractères des souches J et S. Ces caractères ont été contrôlés à plusieurs reprises pendant plus de 2 ans et nous n'avons pas constaté de modification spontanée notable soit dans leurs aspects macroscopiques, soit microscopiques, soit dans les réactions engendrées par la culture sur les différents milieux.

Examen à l'état frais.

Les deux bacilles sont mobiles, c'est un caractère capital sur lequel nous insistons.

La recherche de la mobilité est faite sur une parcelle de colonie isolée siégeant sur la partie haute d'une gélose ayant séjourné 10 à 12 heures à l'étuve à 37°.

On prélève une petite portion de la périphérie de la colonie avec le fil de platine ou mieux avec l'extrémité d'une pipette boutonnée, en ayant soin de ne pas toucher à la gélose. Cette parcelle de colonie est portée sur une lame dans une goutte d'eau où elle s'émulsionne spontanément sans qu'il soit nécessaire de broyer le produit de prélèvement sur la lame. La préparation est recouverte d'une lamelle, lutée à la paraffine, examinée au microscope avec l'oculaire 4 et l'objectif 7.

Les deux bacilles J et S sont mobiles. Cependant la mobilité est plus marquée et est observée sur un plus grand nombre d'individus avec la souche S. On trouve dans chaque champ et pour une même mise au point quelques bacilles peu ou pas mobiles. Après une demi-heure d'examen, la mobilité des bacilles S est encore très nette, celle des bacilles J paraît être moins marquée.

Cet examen ne montre ni capsules ni spores.

Examen après coloration.

A l'épreuve du Gram composé (méthode de Gram puis fuchsine aqueuse) les deux bacilles ne retiennent pas le violet.

Les éléments de la souche S sont sensiblement égaux de taille entre eux. Ils sont fortement et uniformément colorés.

L'examen de la souche J montre quelques rares individus un peu plus longs (2 à 3 fois) que la majorité des bacilles.

Cils, spores, capsules.

Les cils ont été constatés après coloration par la méthode de Loeffler et par le procédé de Van Ermengen.

La recherche des spores (procédé de Moeller) celle des capsules par différents procédés (procédé à la fuschine diluée, méthode de Friedlander, procédé à l'encre de Chine) ont été négatives.

Caractères de culture.

Nous n'avons noté que des différences minimales dans les caractères de cultures des deux souches.

Bouillon nutritif. — A 37°, la culture est rapide. Dès la sixième heure, on observe un léger trouble du milieu et quelques ondes très mobiles quand on agite le tube. La souche S donne un très léger voile blanc grisâtre qui persiste pendant quelques jours sous forme d'une mince collerette discontinue adhérente au verre.

La culture se sédimente rapidement en un culot épais blanc jaunâtre qui, après agitation, s'élève en filaments opaques.

Gélosé nutritive. — Dès la huitième ou dixième heure de culture à 37°, apparaissent de petites colonies bleutées, blanchâtres, à reflets légèrement irisés à l'examen oblique à la lumière artificielle. Trois ou quatre heures plus tard, les colonies présentent leurs caractères classiques. Elles sont surélevées, blanches, à centre opaque et périphérie bleutée.

Rondes, lisses, humides, elles dessinent par leur bord un très fin feston. L'examen à l'objectif 4 dont on a retiré la lentille frontale permet de préciser l'aspect morphologique de ces colonies qui sont très finement grenues à contour polycyclique médiocrement accusé.

Par la suite, les colonies s'affaissent légèrement et le milieu prend tout comme le bouillon une teinte jaune brun.

Gélatine nutritive. — Les colonies sur gélatine sont moins grandes, moins colorées, moins opaques, moins humides et à bord plus profondément festonné que sur gélose. Le sommet légèrement acuminé n'est pas exactement au centre de la colonie. Il est constitué par une condensation des corps microbiens et présente par transparence une couleur jaune bistre. La colonie est parcourue de petits épaissements qui se détachent du sommet pour aboutir aux incisures de la périphérie.

Si l'ensemencement a été fait par piquûre au centre de la masse de gélatine non inclinée, la culture montre le long du trajet d'ensemencement de petites colonies sensiblement rondes, de 1 millimètre de diamètre, opaques, blanches ou jaunes ; la colonie de surface est étalée en une nappe blanche, opaque, humide à bord profondément découpé.

Pomme de terre. — La culture est abondante, plus ou moins colorée selon la variété du tubercule : jaune pâle ou foncée, parfois brune. Le milieu de culture ne change pas de coloration.

Lait. — Le lait est coagulé par les deux bacilles, mais plus rapidement par le bacille S (48 heures).

Petit lait tournesolé. — Le milieu se trouble légèrement et vire au rouge en moins de 24 heures.

Eau peptonée. — La culture présente sensiblement les mêmes caractères que la culture en bouillon.

La recherche de l'indol a été faite sur des cultures en eau peptonée pepsique et en eau peptonée pancréatique. Cette recherche est positive avec les deux souches, soit qu'on la pratique sur une culture de 24 heures, par la méthode d'Ehrlich à la paradiaminobenzaldéhyde, soit sur une culture de 48 heures, selon la méthode de Salkowski.

La réaction s'est montrée moins intense avec le bacille J.

Substances hydro-carbonées. — Nous nous sommes placés pour cette étude, dans les conditions usuelles de l'identification des bactéries des eaux. Nous avons donc écarté délibérément toute méthode de dosage.

A cinq centimètres cubes de gélose nutritive maintenue à 50-60°, on ajoute 2 gouttes de solution concentrée de tournesol neutre stérile R. A. L., puis six gouttes de solution concentrée des différents hydrates de carbone (en général, solution à 30 %). Pour la glycérine que l'on stérilise en tube à essai à l'autoclave, on en ajoute 3 gouttes ; pour l'amidon un centimètre cube d'empois à 7 % stérilisé.

Les tubes ainsi préparés sont inclinés, et quand la gélose a fait prise par refroidissement, elle présente une teinte fleur de lin.

Les milieux sont examinés après 12 à 16 heures de culture à 37°, reportés après 24 heures d'étuve à la température du laboratoire et examinés tous les jours pendant 10 jours. On élimine ainsi la cause d'erreur que peut apporter dans la lecture des résultats un examen précoce en cas d'attaque lente ou un examen tardif en cas d'alcalinisation secondaire rapide.

Les deux bacilles sont actifs sur les monosaccharides : arabinose, xylose, glucose, galactose, lévulose. Le virage du tournesol est définitif et s'accompagne d'un léger dégagement de bulles de gaz à la partie inférieure du tube avec la souche S. La souche J est sans action sur l'arabinose. Il y a alcalinisation secondaire dès le 3^e ou 4^e jours avec les autres sucres.

La souche J donne avec les di-saccharides un virage lent et partiel du tournesol sur la gélose lactosée. Elle est sans action sur la saccharose.

Avec la souche S, on note une attaque franche et rapide du lactose avec dégagement de bulles de gaz. L'attaque du maltose est partielle et transitoire. Le saccharose n'est pas modifié.

Dans le groupe des alcools, les deux souches attaquent tardivement (en 2 à 3 jours), mais définitivement la glycérine. Seule la souche S est active sur la mannite. Le virage s'accompagne d'un déga-

gement de bulles de gaz. Les deux souches sont inactives sur la dulcité.

Dans le groupe des polypeptides, aucune des souches n'attaque l'amidon.

Gélose au sous-acétate de plomb. — Le culot de gélose est ensemencé par 3 piqûres le long du verre. La souche S ne détermine aucune trace de virage. Le bacille J donne une très légère coloration grisâtre sur le trajet de l'ensemencement. Mais cette action peu prononcée et qui demeure localisée est négligeable.

Gélose glucosée au rouge neutre. — L'ensemencement est pratiqué par piqûre au centre du culot de gélose. La réaction est positive avec les deux souches : virage au jaune, puis fluorescence, dégagement de bulles de gaz. Le phénomène est plus précoce et la production de gaz plus marquée avec la souche S.

Cubes d'albumine d'œuf coagulée et de sérum coagulé en bouillon. — Les deux fragments d'albumine ne sont pas modifiés après plus d'un mois de culture.

Eau peptonée nitrée. — En eau peptonée nitrée, seule la souche S donne un dégagement de gaz assez net.

Gélose Veillon. — Les cultures des deux bacilles présentent le même aspect. Les colonies se développent aussi bien dans la zone d'aérobiose que dans la

zone d'anaérobiose. Elles présentent leur aspect classique avec dégagement de bulles de gaz.

APPARITION DE LA TRANSFORMATION GRASSE OU COULANTE

Cette transformation peut être déjà qualifiée de mutation, comme on le verra dans le courant de notre exposition. C'est en effet un changement de caractère brusque dans son apparition et qui persiste dans la succession des générations.

La mutation grasse peut apparaître sur une colonie ou sur un petit nombre de colonies alors que l'ensemble de la culture est constitué de colonies mutilées.

Mais le plus souvent, la modification intéresse les colonies développées sur une partie déterminée de la gélose : portion inférieure ou portion supérieure du milieu.

Dans ce dernier cas, la mutation est tardive. A la sortie de l'étuve, la culture présente deux sortes de colonies d'aspects différents ; colonies blanches opaques dans la partie supérieure, mince couche transparente à peine visible dans la partie inférieure. En notant l'aspect des colonies de haut en bas du tube, nous voyons tout d'abord des colonies rondes, blanches opaques et surélevées, lisses humides nettement limitées. Dans la portion immédiatement sous-jacente, quelques colonies sont partiellement décolorées, affaissées et leur limite périphérique est

à peine indiquée. Parmi ces colonies, il en est qui sont modifiées dans toute leur surface. Elles apparaissent comme une tache blanche opaque aplatie entourée d'un halo muqueux.

Au niveau de la partie moyenne du tube où la culture est confluyente, on voit une nappe blanche opaque criblée de petites pertes de substance d'autant plus nombreuses que l'on s'éloigne de la partie haute du milieu. Au niveau de ces pertes de substance, la gélose apparaît recouverte d'un mince mucus bleu transparent. Le nombre de ces taches augmentant à mesure que l'on descend vers le fond du tube, la nappe blanche opaque se trouve bientôt réduite à un fin réseau de tractus dichotomisés en tous sens et dont les plus inférieurs sont isolés au sein du mucus bleuté qui tapisse la partie inférieure du milieu.

En 2 à 3 jours, la gélose ne présente plus aucune trace de colonies dans son segment inférieur. C'est à peine, si l'on devine un léger trait qui marque encore les limites de la nappe de culture.

Les colonies supérieures qui ont échappé à la lyse changent d'aspect. Leur segment inférieur s'affaisse et glisse sur la surface du milieu. La colonie présente alors un contour piriforme à pointe inférieure. Déjà moins opaque, moins colorée et moins surélevée qu'au premier jour, elle coule vers la partie inférieure du milieu où elle forme, en une semaine, une masse crémeuse blanche ou jaunâtre, filante au prélèvement.

La glaire qui persiste sur la gélose après le passage de la masse microbienne est parcourue par **une** ou plusieurs veines blanchâtres, opaques légèrement sinucuses. Après quelques semaines, il ne persiste sur la gélose qu'un mince liseré indiquant le contour de la colonie et de son prolongement.

Si la mutation grasse frappe la culture dans sa partie inférieure, les colonies sus-jacentes se rapprochent d'autant plus du type classique qu'elles sont plus haut situées.

Par ensemencement sur gélose d'une colonie grasse ou du dépôt crémeux collecté au fond du tube, on obtient une culture de type gras ou coulant. Après 5 à 6 heures de culture à 37° apparaissent de petites colonies rondes, bleues à piqueté blanc ou blanches à piqueté jaunâtre surélevées, lisses, humides, présentant à l'éclairage oblique des reflets richement irisés.

En moins de 10 heures, ces colonies deviennent confluentes en une nappe blanche, lisse, humide et grasse à peine surélevée. A la partie supérieure sèche de la gélose, sur les bords de la nappe et à leur contact presque immédiat, on observe de petites colonies isolées qui conservent le caractère primitif de culture blentée à piqueté blanc, mais qui évolueront aussi vers le type gras.

Il est aisé d'obtenir des cultures plus ou moins grasses et coulantes. L'ensemencement du dépôt crémeux du fond du tube, par simple attouchement au fil de platine de la partie supérieure d'une gélose

donne une colonie grasse glissant rapidement sur la surface du milieu pour se collecter dans le fond du tube.

Si l'on ensemence dans les mêmes conditions une des petites colonies bleutées bordant la nappe précédemment décrite, la culture sera grasse, mais moins coulante. Le prolongement issu de la colonie n'atteindra que deux à trois centimètres de longueur et s'affaîssera avant d'atteindre le liquide de condensation.

Les géloses humides favorisent le développement du caractère coulant des cultures.

ETUDE DES CULTURES GRASSES ET COULANTES

Examen à l'état frais.

L'examen à l'état frais entre lame et lamelle (oc. 4 obj., 7) ne permet pas de déceler de bacilles mobiles même dans les cultures très jeunes (6 à 7 heures à 37°). On note seulement des mouvements dits browniens dont l'amplitude varie d'un examen à l'autre pour une même souche.

Les bacilles sont très inégaux de taille ; mais ils sont tous plus grands que les individus les plus longs de la souche d'origine. Bacillaires ou filamenteux, droits ou incurvés, ils sont assez réfringents et paraissent être entourés d'une capsule.

Examen sur frottis coloré.

Les bacilles ne gardent pas le violet après coloration par la méthode de Gram.

L'examen d'un frottis de culture jeune montre des éléments de taille et de coloration inégales. Ils mesurent en moyenne 12 à 15 mus de longueur et déjà on note quelques formes filamenteuses.

Sur le frottis d'une culture de 16 heures, l'élément caractéristique est un filament d'une longueur considérable prenant bien le colorant. Droits ou incurvés, sinueux, simples ou en chaînes de peu d'éléments, ces filaments sont démesurément développés. Certains d'entre eux décrivent une dizaine de boucles enlacées et couvrent plus de la moitié du champ du microscope (oc. 4 obj. a imm. 1/15). Quelques formes élargies longues de 7 à 8 mus sur 3 à 5 mus de largeur et prenant irrégulièrement le colorant, sont groupées en amas.

Le frottis d'une culture de 20 heures est tapissé d'un fin reticulum et d'un léger dépôt pulvérulent à peine teintés. Il existe à côté des formes filamenteuses et des bacilles longs, des individus à espace central clair dont un grand nombre sont allongés en biseau. Mais on rencontre surtout des bacilles uniformément colorés ou granuleux qui au contact des amas pulvérulents sont entourés d'une large zone incolore nettement limitée simulant une capsule. Quelques formes granuleuses à limite périphérique nette présentent dans leur corps 6 à 10 taches vivement colorées, irrégulières de taille et de distribution, se détachant sur le fond incolore du corps bacillaire. On note quelques formes ovoïdes faiblement colorées, en teinte plate, entourées d'un large halo rosé simulant une capsule.

Les frottis de cultures âgées de plus de 24 heures montrent des formes, dans l'ensemble, à peine colorées. Les filaments sont beaucoup plus rares et moins développés. Ils ont perdu la netteté de leur contour. Assez vivement colorés à une de leurs extrémités relativement mince, ils s'élargissent pour se diviser en de petits faisceaux divergents pâles, mal limités dans leur extrémité terminale.

Les formes larges peu allongées sont les plus nombreuses. Elles tendent à s'agglutiner et prennent irrégulièrement le colorant. Elles constituent des amas en broussailles d'où émergent à la périphérie des formes bacillaires. Plus tard, cet amas donne une masse incolore en son centre et dont la limite dessine des sinuosités légèrement colorées.

Nous ne décrivons pas les formes anormales : formes en virgules, formes rondes terminées par un filament large et sinueux, formes grossièrement spirillaires.

Après quelques jours de culture, on observe de nombreuses formes coccobacillaires franchement colorées. Ces formes, par la suite, persistent seules à côté des débris informes et de très rares bacilles profondément dégradés.

L'examen microscopique après coloration des microbes prélevés sur les différents points de la surface de la gélose d'une culture jeune permet de constater que, d'une façon générale, les formes longues vivement colorées siègent dans la portion supérieure du milieu ; les filaments sont beaucoup moins

nombreux dans la partie moyenne où se rencontrent surtout les formes élargies pâles très modifiées dans leur contour. Enfin, dans le dépôt collecté au fond du tube, on ne découvre qu'une masse informe étalée sur la lame en une couche rose pâle ou rouge violacé selon son épaisseur et où il est impossible de reconnaître des formes bacillaires.

Cils, spores, capsules.

Nous avons fait ces différentes recherches avec les techniques utilisées pour les bacilles des souches d'origine.

Nous n'avons constaté sur les préparations ni cils, attachés aux corps bactériens, ni cils libres.

La recherche des spores a été négative.

Les capsules ont été identifiées sur un certain nombre d'éléments, en particulier sur ceux que nous avons signalés, entourés d'un halo rosé sur frottis coloré par la méthode de Gram composée. Si la capsule fait défaut chez certains bacilles, précisément les plus dégradés, c'est que la lyse débutant par la périphérie des corps bacillaires, la substance capsulaire disparaît la première.

Caractères de culture.

Bouillon. — Le bouillon se trouble uniformément en 5 à 6 heures à 37°. On constate, en agitant le tube, de rares ondes paresseuses qui trois ou quatre heures plus tard ne sont plus décelables que dans la zone superficielle du milieu. On note l'apparition

précoc^e d'un voile gras qui tombe facilement au fond du tube mais se reproduit aisément. Ce voile couvre toute la surface libre du milieu et s'attache à la paroi en une collerette haute de 2 mill. régulière, blanche, opaque et qui se plisse finement après quelques jours. Après une quinzaine de jours, ce voile est si résistant et élastique qu'il peut se déprimer en doigt de gant dans le liquide sur une profondeur d'un centimètre, tout en demeurant adhérent par ses bords à la paroi du tube.

Nous avons noté la rapide formation d'un sédiment abondant. Par agitation, ce dépôt s'élève en un long filament muqueux décrivant de longues spirales peu prononcées et qu'il est impossible de rompre. Le bouillon devient sirupeux et ne se clarifie jamais parfaitement.

Gélose nutritive. — Nous avons déjà décrit les caractères de culture sur gélose inclinée. Nous n'y reviendrons pas. Nous rappellerons toutefois le caractère muqueux de la culture ; au prélèvement, la colonie fuit devant le fil de platine. La parcelle de culture chargée sur le fil demeure réunie à la colonie par un tractus mince, élastique qui peut atteindre deux centimètres de longueur. Parfois la parcelle prélevée sur le fil, est attirée par ce filament qui la ramène sur la colonie. Le caractère muqueux se manifeste encore à l'occasion de l'étalement sur lame pour examen après coloration. L'émulsion dans une goutte d'eau est malaisée ; il persiste toujours de petits amas muqueux, élastiques qu'il faut dilacérer

soigneusement sur la portion sèche du verre afin de pouvoir les émulsionner ensuite plus facilement dans l'eau.

Gélatine. — L'ensemencement par piquûre au centre d'un culot de gélatine donne une culture en 24 heures. C'est une culture « en tête de clou de sabot. » La colonie superficielle est bombée, porcelainée, humide, lisse, grasse, à contour net non festonné. La culture sur le trajet d'ensemencement s'amincit progressivement en pénétrant plus avant dans le milieu, mais parfois présente un petit épaissement terminal. Nous avons noté la production, non constante d'ailleurs, de bulles de gaz qui apparaissent vers le quatrième ou le cinquième jour de culture.

Après plusieurs mois de culture, la gélatine n'était pas liquéfiée.

Pomme de terre. — La culture est rapide ; en moins de 48 heures, on observe une nappe épaisse, grasse, lisse, plus rarement grenue, d'abord jaune pâle, bientôt plus foncée, enfin brun marron. Le milieu prend lui-même une teinte grisâtre ou brun sale. Nous n'avons pas constaté la production de bulles de gaz.

Lait. — Le lait est coagulé en 3 ou 4 jours. Le caillot est fissuré et il exsude un peu de sérum.

Petit lait tournesolé. — Le petit lait tournesolé rosit en quelques heures avec ou sans trouble du mi-

lieu. Il présente un voile ou un anneau blanc assez épais.

Eau peptonée. — La recherche de l'indol a été répétée à plusieurs reprises sur des cultures en eau peptonée pepsique et en eau peptonée pancréatique. La réaction est négative aussi bien avec la méthode de Salkowski qu'avec la paradiaminobenzaldéhyde. Avec ce dernier réactif, nous n'avons jamais vu la production d'un anneau rose ou lilas.

D'ailleurs au cours de nos essais nous avons assisté à la disparition progressive du pouvoir indologène des cultures, parallèlement à l'apparition de leur caractère muqueux gras ou coulant.

Substances hydro-carbonées. — Les souches modifiées ont sur les différentes substances hydro-carbonées une action plus puissante que les souches d'origine.

Les souches dérivées du bacille J font virer tardivement et transitoirement le tournesol des milieux contenant de l'arabinose. Il y a dégagement de gaz. On sait que la souche d'origine était inactive sur ce sucre. Les autres hydrates carbonés de cette série, xylose, glucose, galactose, lévulose, sont attaqués au deuxième jour. Le milieu est définitivement modifié, sans alcalinisation secondaire. La production de gaz est minime dans les milieux lévulosés, marquée aux dépens du xylose et du glucose, considérable avec le galactose puisqu'elle s'accompagne de fragmentation de la gélose.

Le lactose et le maltose sont rapidement attaqués; il y a dégagement de bulles de gaz. Avec le saccharose, la réaction du tournesol est tardive, partielle suivie d'alcalinisation secondaire. Nous avons indiqué précédemment que le bacille J était faiblement actif sur le lactose et le maltose, sans action sur le saccharose.

Dans l'action sur les alcools, seul est à noter le virage plus précoce du tournesol en présence de la glycérine. La mannite n'est pas modifiée. Sur la dulcité, la culture est abondante et le tournesol est décoloré dans la partie inférieure du tube.

Avec les souches dérivées du bacille S, la fermentation du lévulose, du maltose et de la mannite est précoce et s'accompagne de production de gaz. Les caractères de fermentation du saccharose que le bacille S ne modifiait pas, sont les mêmes que pour les sucres précédents.

La dulcité et l'amidon ne sont pas attaqués.

D'une façon générale, les souches modifiées font fermenter plus activement et, avec un dégagement de gaz considérable un plus grand nombre de substances hydro-carbonées que les souches d'origine.

Gélose au sous-acétate de plomb. — La culture se fait avec abondante production de gaz et sans noircissement le long des trajets d'ensemencement.

Gélose glucosée au rouge neutre. — En une dizaine d'heures, la gélose glucosée au rouge neutre est criblée de bulles de gaz qui se reproduisent pen-

dant 3 à 4 jours. Le milieu est décoloré, prend une teinte jaune sans fluorescence mais uniquement dans sa zone superficielle.

*Cubes d'albumine d'œuf coagulée et de sérum
coagulé en bouillon*

Un voile muqueux léger apparaît rapidement à la surface du milieu. La culture est plus abondante dans la moitié supérieure du bouillon. Les cubes d'albumine et de sérum ne sont pas digérés même après plusieurs semaines.

Eau peptonée nitratée. — L'action sur les nitrates en eau peptonée est faible.

Gélose Veillon. — Les colonies ont le même aspect que les colonies du bacille d'origine, mais la culture est plus abondante dans la zone d'aérobiose.

Si nous résumons brièvement les caractères de culture des colonies grasses ou coulantes, nous constatons qu'elles sont plus volontiers aérobies que les cultures des souches d'origine (apparition d'un voile dans les milieux liquides, culture plus abondante dans la zone d'aérobiose de la gélose Veillon). Sur gélose inclinée, la culture est rapide, abondante muqueuse, grasse ou coulante, filante au prélèvement. Sur pomme de terre, le bacille pousse en nappe grasse humide colorée ; le milieu lui-même prend une teinte grisâtre ou brunâtre. La culture en gélatine donne l'aspect classique de culture « en clou »

avec dégagement de bulles de gaz. Il n'y a pas de liquéfaction.

Si nous ajoutons à ces caractères l'absence de production d'indol, le remarquable dégagement de gaz allant jusqu'à la fragmentation de la gélose à la suite de l'attaque d'un grand nombre de substances hydro-carbonées, nous avons tous les éléments du diagnostic d'un bacille de Friedlander, diagnostic confirmé par l'absence de mobilité, la présence d'une capsule, l'inégalité de taille des bacilles d'une culture jeune.

PERSISTANCE DES CARACTÈRES DES COLONIES MODIFIÉES

Les caractères décrits ne sont pas transitoires. Ils ont été constatés pour la première fois dans les derniers mois de l'année 1922. Eprouvés à nouveau deux ans plus tard sur des souches réensemencées souvent (toutes les six semaines) ou rarement (tous les 6 ou 8 mois) ils se sont montrés sensiblement stables.

On note seulement un retard au départ de la culture réensemencée sur gélose avec les souches conservées pendant plus de 6 mois par piqure dans un culot de gélose. Le bacille cultive mieux tout d'abord à 28-30° qu'à 37° ; mais après deux ou trois réensemencements sur gélose, il récupère sa rapidité de développement à 37°.

Il ressort de ces essais que le bacille du côlon traité par les filtrats d'eaux résiduaires acquiert des caractères nouveaux qui le rapprochent du bacille de Friedlander. Ces caractères sont si différents que l'on pourrait invoquer une contamination accidentelle des cultures au cours des essais.

Nous avons répété les expériences pendant plusieurs mois sur différentes souches de bacilles du côlon. Nous avons toujours obtenu la transformation muqueuse.

D'ailleurs il est possible d'obtenir rapidement par des techniques plus simples, mais plus aveugles les mêmes résultats. Il suffit de répartir dans des tubes de bouillon des dilutions de filtrat actif et d'ensemencer chaque tube avec une quantité constante d'émulsion de culture de bacille du côlon, puis de reporter sur gélose une anse de platine de chacun des bouillons de culture après 16 à 20 heures de séjour à l'étuve à 37°. Une ou plusieurs cultures sur gélose présenteront des colonies mutées.

L'origine des eaux d'égouts n'a pas d'influence sur le phénomène. Nous avons obtenu des colonies grasses ou coulantes aussi bien avec les eaux d'égouts prélevées à Clichy qu'avec les eaux résiduaires de la station d'essais de Montmesly qui reçoit les eaux d'une région où les usines sont nombreuses.

L'influence saisonnière est nulle. Les eaux prélevées pendant la saison chaude ou la saison froide (mois de juin ou de novembre) sont également actives sur les bactéries.

Enfin, il est possible, tout au moins lorsque la modification est de date récente, de faire perdre aux cultures leur caractère gras ou coulant. Il suffit de faire des cultures successives de gélose sèche sur gélose sèche en prenant soin, pour chaque ensemencement de prélever une colonie isolée siégeant dans la partie supérieure de la gélose. On peut encore utiliser le procédé couramment employé pour l'entretien des souches de la collection de l'Institut Pasteur. Une parcelle minime de colonie sur gélose est émulsionnée dans un bouillon ; dès que ce bouillon présente des ondes à la lumière artificielle, on en prélève une anse que l'on porte dans un bouillon neuf. Bientôt, après plusieurs cultures successives on note de nouveaux caractères : les ondes sont beaucoup plus mobiles, la sédimentation est tardive et le culot moins abondant. Si l'on ensemence sur gélose inclinée une anse de platine d'une telle culture, on obtient des colonies qui se rapprochent, macroscopiquement des colonies du bacille du colon.

Enfin nous avons isolé des souches profondément dégradés. En bouillon, elles donnaient une discrète pellicule qui remontait en collerette sur la paroi du tube, sur un centimètre de hauteur. Sur gélose, les colonies étaient petites, surélevées, bleues opaques. En gélatine persistait la culture « en clou ». Ce germe, ne coagulait pas le lait, était sans action sur le petit lait tournesolé et les substances hydrocarbo-

nées. Ces cultures provenaient de nombreux réensemencement successifs sur gélose humide du dépôt crémeux collecté au fond du tube de colonies grasses, rapidement coulantes.

Nature du Phénomène

Nous rapprochons ces transformations de celles qui ont été observées depuis longtemps sous l'influence de certains constituants des milieux de culture.

Nous avons signalé que l'isolement du bacille du côlon en bouillon phéniqué Péré provoquait la transformation muqueuse de la bactérie ; mais cette transformation passe inaperçue, si l'on pratique des ensemencements successifs et rapides en milieu nutritif liquide.

On invoque volontiers l'action d'une substance antiseptique pour expliquer certaines transformations morphologiques d'une bactérie. Les travaux de Guignard et Charrin sont connus de tous. Mais à côté de la transformation muqueuse du bacille du côlon, nous avons noté la disparition de la mobilité de la bactérie, l'absence de production d'indol, la transformation des caractères fermentaires.

Ces modifications sont identiques aux variations provoquées depuis longtemps par C. Gessart sur le bacille pyocyanique. L'action de la chaleur ou d'un antiseptique exalte « *in vitro* » une propriété du mi-

crobe, tandis que certaines autres sont atténuées ou masquées : ces dernières se manifestent à nouveau transitoirement, si l'on ajoute une petite quantité de glycérine aux milieux de culture. La même substance ajoutée à doses plus fortes imprime à la bactérie des modifications profondes ; non seulement il y a disparition de la production des pigments et du pouvoir de sécrétion de la diastase gélatinolytique, mais il y a en outre, apparition d'une autolyse transmissible aux cultures ultérieures (J. Blanc).

La propriété virulente elle-même, vis-à-vis d'une espèce animale, peut disparaître ou réapparaître par culture en présence d'une substance déterminée. Dujardin-Beaumetz a montré que la virulence du microbe de la péripneumonie des bovidés pouvait être exaltés *in vitro* vis-à-vis de ces animaux par culture additionnée de sérum de bœuf ; elle est, au contraire atténuée, si l'on substitue au sérum de bœuf du sérum de cheval et dans ce cas, la culture loin d'être virulente constitue un excellent vaccin pour les bovidés.

En résumé, la présence dans un milieu de culture d'une substance déterminée peut faire varier les propriétés d'une bactérie. Nous sommes donc autorisés à rapprocher de faits depuis longtemps établis l'action des eaux résiduaires sur les bacilles pathogènes de l'intestin et sur le bacille du côlon. Cette action lytique dont nous ne préjugerons pas ici la nature, engendre une gamme de dégradations morphologiques et diastasiques qui aboutissent, après

une série de contacts plus ou moins nombreux avec les filtrats, à la lyse rapide et complète de la culture. Cette lyse est transmissible en série dans la suite des réensemencements. Une action analogue avait été déjà obtenue par Bordet et Ciuca ; après un séjour dans le péritoine du cobaye, le bacille du côlon réensemencé sur milieu nutritif subit la transformation muqueuse.

Certains bactériologistes ont voulu assimiler la fièvre typhoïde à la peste porcine, maladie due à un virus filtrable non cultivé et dont les lésions spécifiques et mortelles sont provoquées par une bactérie du groupe des bacilles paratyphiques. La preuve de cette analogie n'a pas été faite.

Cependant, avec R. Legroux, nous pourrions invoquer en faveur de l'origine des maladies infectieuses intestinales la présence des germes typhiques ou dysentériques sous une forme filtrable ; et ces bactéries ne pourraient être facilement décelées dans les milieux usuels par suite d'un principe lytique concomitant. En 1907, Lourens signale la filtrabilité du bacille suipestifer (bacille paratyphique de Salmon) après la désagrégation en granules des corps bactériens. En 1910, Fontes établit que le bacille tuberculeux, sous sa forme granuleuse, traverse les bougies, puisque le filtrat tuberculise le cobaye, mais après une période d'incubation très prolongée. En 1911, R. Legroux filtre de vieilles cultures de bacilles du rouget du porc, et le pigeon inoculé avec le filtrat meurt après 15 jours tandis que

l'inoculation de la culture totale tue l'animal en 3 à 4 jours.

Ne pourrait-on invoquer un mécanisme analogue pour le bacille typhique et le bacille dysentérique?

Récemment, Hauduroy signalait la filtrabilité de ces bactéries qui avaient subi la lyse du phénomène de d'Illérelle. La suspension à filtrer ne présentait à l'examen microscopique que de fins granules.

Nous avons pu constater que le bacille du côlon se développait après un temps de conservation prolongé dans les filtrats primitivement éprouvés et reconnus stériles. Ce phénomène est particulièrement fréquent, semble-t-il, lorsque le contact du bacille avec le filtrat a été de courte durée et que la proportion de filtrat ajoutée aux milieux de cultures successives est rapidement décroissante. Il y a, dans ce cas, lyse partielle et transitoire. Le principe lytique détruit l'ectoplasme, mais se révèle insuffisamment actif sur les granules endoplasmiques qui se régénèrent tardivement sous la forme bacillaire.

Nos expériences ayant montré l'action lytique totale ou partielle des eaux d'égouts sur les bacilles pathogènes intestinaux et sur le bacille du côlon, nous envisageons que les granulations endoplasmiques vivantes pourraient être les agents de contamination de l'homme. On conçoit que cette forme filtrable du bacille typhique douée de tous les caractères de la bactérie fixerait le pouvoir pathogène exalté par passages. La régénération de ces granules

dans l'organisme humain marquerait la période d'incubation de la fièvre typhoïde. Dans l'infection typhique expérimentale que nous avons décrite avec Jean Dalsace, chez le cobaye injecté avec des cultures normales, nous n'avons pas noté de période d'incubation.

L'hypothèse que nous indiquons serait à vérifier cliniquement.

Interprétation des Résultats d'analyse d'Eau

Les résultats de nos expériences expliquent ceux que donne l'analyse des eaux elle-même.

1° Nous avons vu *in vitro*, la destruction du bacille dysentérique et des bacilles typhiques et paratyphiques soumis à l'action des filtrats. Or, ces différentes bactéries ne sont pas retrouvées dans les analyses d'eaux.

2° Seul le vibrion cholérique s'est révélé résistant ; il ne peut être totalement lysé. Les colonies sèches et plissées que nous considérons comme une manifestation du début de la lyse ne sont obtenues qu'après un contact prolongé avec les eaux d'égoûts ; et ce stade prélytique ne peut être dépassé. On sait la fréquence relative du vibrion cholérique dans certaines eaux, en dehors même de toute épidémie.

3° Notre expérimentation donne pour le bacille du côlon les mêmes enseignements que l'analyse des eaux faite par le procédé Péré ou par l'ensemencement en gélatine.

Si l'on recherche le bacille du côlon par la méthode du bouillon phéniqué (Péré ou Vincent) et que dès l'apparition de la culture l'on ensemence sur gélose on isole une bactérie dont les caractères sont ceux du bacille de Friedlander. Ensemence-t-on la même eau directement en gélatine, on voit se développer en plus ou moins grand nombre, selon l'échantillon des eaux, des colonies présentant l'aspect et les caractères des colonies en îlot de glace. Le bacille du côlon n'a pas été modifié par la présence d'acide phénique.

Conclusions

I. Les germes pathogènes intestinaux, à l'exception du vibron cholérique, sont détruits dans les eaux résiduaires.

II. Le bacille du côlon n'est que rarement isolé de ces eaux par les méthodes usuelles. Seul est décelé le bacille de Friedlander.

III. L'agent étiologique des épidémies de fièvre typhoïde d'origine hydrique doit être recherché dans les eaux sous une forme bactérienne différente de la forme bacillaire qu'il présente dans les lésions spécifiques de la dothientérie.

Vu, le Doyen,

ROGER.

Vu, le Président,

F. BEZANÇON.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

APPELL.

Bibliographie des Auteurs cités

- BLANC J. — Transformation du bacille pyocyanique en bacille sans pigment. Essai d'interprétation. C-R. S. B., 1923, T. 88, p. 52.
- BORDET et CIUCA. — Exsudats leucocytaires et autolyse microbienne transmissible. C-R. S. B., 1920, T. 83, p. 1293.
- DALSACE JEAN et GORY. — Infection typhoïdique expérimentale du cobaye. C-R. S. B., 1925, T. 92, p. 237.
- DUJARDIN-BEAUMETZ. — Le microbe de la péripleumonie et sa culture. Thèse de Paris, 1900.
- FONTES. — *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1910. T. 11. Fasc. II. Estudos sobre o tunerculoze.
- GESSARD. — Des races de bacilles pyocyaniques. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1891. T. 5, p. 65. — Diagnose pigmentaire des bacilles pyocyaniques. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1919. T. 33, p. 241. — Bacilles pyocyanoides de la variété mélanogène. C-R A. S. 1925. T. 180, p. 972.
- GUIGNARD et CHARRIN. — Sur les variations morphologiques des microbes. C-R. A. S. 1887, T. 105, p. 192.
- GRIMBERT. — Recherches sur le pneumobacille de Friedlander. — 1^{er} Mémoire. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895. T. 9, p. 840; 2^e Mémoire, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1896, T. 10, p. 708.
- HAUDUROX. — Les cultures secondaires après filtration dans le phénomène de d'Hérelle. C-R. S. B., 1924. T. 91, p. 1209. — Les cultures secondaires après filtration dans le phénomène de d'Hérelle. C-R. S. B., 1924. T. 91, p. 1325.

- LEGROUX R. — Bacille du rouget du porc, forme filtrable. Cours de microbiologie de l'Institut Pasteur, 1912. — Tubulure de bronze à deux voies et appareils de filtration. Cours de microbiologie de l'Institut Pasteur, 1923. — Appareil automatique de sécurité. Cours de l'Institut Pasteur, 1924.
- LEGROUX R. et MAGROU J. — Etat organisé des colonies bactériennes. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1920. T. 34, p. 417.
- LOURENS L. F. D. E. — Centalb. f. Bakt. und Parasiten, und Infh., 1907. Band 44. Orig. I Abt., p. 420.
- MORI. — In Diagnostikum der Bakterien des Wassers de A. LUSTIG, 1893. IENA, chez G. Fischer.
-